

18 E 623  
(31 B 222)

特許廳  
特許公報

特許出願公告  
昭43-25506  
公告 昭43.11.4  
（全4頁）

### リボフラビン脂肪酸オリゴエステルの製法

寄 頼 號 40-56913  
 出 願 日 昭 40.9.16  
 発 明 者 山口茂  
 住 所 島中市會程東町1の36  
 姓 名 山口安  
 本 領 京都市左京区玉川源田町155  
 人 住友化学工業株式会社  
 代 表 者 大阪市東区北浜5の15  
 代 理 会員士 沢浦翁男

### 図面の問題を解説

第1回(a)はリボラビンの紫外線吸収スペクトルを表わし、第1回(b)は実験例1のリボラビン・クラン壁トリエスチルの紫外線吸収スペクトルを表わす。第2回は実験例2のリボラビン・イソ吉草酸トリエスチルの紫外線吸収スペクトルを表わしたものである。

発明の構成と説明

本発明は水溶性のビメシンB、すなわちリゴフラビンのリゴビラスト剤に乃至至る組成物の脂肪酸をエステル結合により導入し、それを脂溶性の高いビメシンBに導化させる技術に関する。このエステルはバーチー、オリーブ油等の油脂に高感度であり、いわば体内にコーティングしたりして強化食品にでき、また化粧用クリームに添加して皮膚からの浸透性を高める等の特長を有する。かかる目的をもつてエステル結合される脂肪酸は癸酸辛子酸等以上の脂肪酸で、側鎖を有する脂肪酸も含まれ、例えば癸酸、イソギ草酸、ラウリン酸、ステアリン酸、オレイン酸、パルミチン酸等があげられる。

本法は相当する脂肪酸のハロゲン化物、特にクロライドをリボラブリソン<sup>1</sup>セルに対して3モル以下の割合で結合するように使用すること、アルカリ水溶液を反応浴液とすること、および生成したエニステルをカラムクロマトグラフ<sup>1</sup>または離心分離によって分別精製することを特徴とするアルカリ性水溶液を使用する有利な点は従来法に反し既往条件を適当に選択することによって、モニスル等、ジエヌサル<sup>1</sup>、トリエヌアル<sup>1</sup>の中性

着の分画が高い収率(80乃至90%)でえられるにある。これらのオリゴエヌクレオチドはデオキシヌクレオチドに比して、充分に競争性であると共にリボフラビン含量の高いこと、リバーピド加水分解され活性リボフラビンを生じ易いこと等から実用上特にすぐれている。

すなわち具体的には、リガフランクアリン酸モノエステル、ジエステル、トリエステル等が基質とし、酵素として、パンクリアトリペptaseを用い、pH 7.0のリン酸緩衝液を用いて、3.7℃で90分間加水分解反応を行ったところ下表のような結果が得られ、そのすぐれた实用性が立証された。

基 础	加水分解適量 (%)	ビタミンB <sub>1</sub> 吸 収効果(ラブト 乾鶏)
リボフラビンラ ウリン酸モノエ ステル	4.5	+++
リボフラビンラ ウリン酸ジエヌ テル	3.0	+++
リボフラビンラ ウリン酸トリエ ヌテル	2.7	+++
		コントロール ++

(ラントを3週間完全制覇?)

なお、元素分析、可視部吸収スペクトル、赤外線吸収スペクトル等を測定し、本発明は成膜物が相当する脂肪酸のオリゴエステル中の一分子であることを確認した。

次に実施例を示し本発明をさらに詳細に説明する。

July 2001

リボフラビンの粉末3.76 g (0.01モル)を適當量の水に懸濁させ、氷冷下でよく攪拌しつつ、これに8.5% KOH (またはNaOH) 7.3 g (0.11モル) / 1.5 ml水およびラクタリン酸クロライド21.8 g (0.1モル)を等量ずつ加え

**BEST AVAILABLE COPY**

(2)

特公昭43-25506

くり滴下する。

30分乃至60分かけて全部を滴下し、さらに30分間搅拌をつづける。反応終了後、いつたん識別または遠心分離して黄色固形物を集め、ついでクロロホルム、トルエン等の揮発性溶媒で抽出する。場合によつては、いつたん固形物を分離しないで、直ちに溶媒で抽出してもよい。

有機溶液を遠心旋盤ナトリウム水、ついで水で分液コート中で振り、よく洗つてから溶液を減圧下で留去すれば、油状または固形のリボフラビンラウリン酸エステルが得られる。収量は90%である。

これをさらに精製するには、石油エーテルかさたな石油ベンジンに溶解かして、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、石油ニードル十エタール(1:1の分量比)またはエーテルの分量を大きくした溶液で溶出する。溶液を減圧下で留去すれば純黄色結晶を得る。

本品は低温で堅めて安定であり、水に不溶。各組の有機溶液および油脂とよく溶けて黄褐色のケイ光を示す。本品の融点および元素分析値は第1表の通りである。元素分析値から本品はリボフラビン1分子に対してラウリン酸3分子を含むトリエステルであることがわかる。

第 1 横

化 合 物	融 点	元 素 分 析 値 (%)		
		C	H	N
リボフラビン	288.5~	理論値	54.26	5.32
	292.6℃	実測値	54.58	5.21
リボフラビンラウリン酸	127.5~	理論値	58.98	9.33
	144.5℃	実測値	57.33	9.18
トリエステル				6.03

本品のオリーブ油中における可視部吸収スペクトルはリボラビンの水溶液のものと相似するが、その吸収極大は440mμにあつて、リボラビンの445mμより少しく短波長に位する。また本品の赤外線吸収スペクトル(KBr板製剤)は第1図Bの通りである。第1図Bのリボラビンのスペクトルと比較して、いわゆる指紋領域の各吸収帯が吸減して抑制していることから、エステル結合によつてイソアクリルサザン様の保存されてゐることがわかる。また(b)にのみ記載められた3.5μの吸収帶はパラフィン顕によるものであり、脂肪酸が導入されていることを明示している。

## 実験例 2

④リボラビン2.8gを50mlの水に溶解させ、水冷下で撹拌しながらイン吉草酸クロライド1.21gとKOH 6.1gと15ml水を小量ずつ滴下する。反応終了後、トルエンで抽出し、このトルエン層を水でよく洗つてから40℃以下でトルエンを減圧留去する。残り物の油状体を石油ベンジンに溶解かし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行う。以下実験例1と同じようにして溶出液から溶液を蒸発させると、赤褐色の油状リボラビンエヌアル1.2gを得る。

第2表に示す本品の元素分析値より、リボラビン1分子に対してもイソアクリルサザン3分子が結合した

⑤トリエステルであることがわかる。

第 2 横

化 合 物	元 素 分 析 値 (%)		
	C	H	N
リボラビンイソ吉草酸トリエステル	理論値	61.15	7.01
	実測値	59.81	7.15
			7.91

BEST AVAILABLE COPY

(3)

特公 昭43-25506

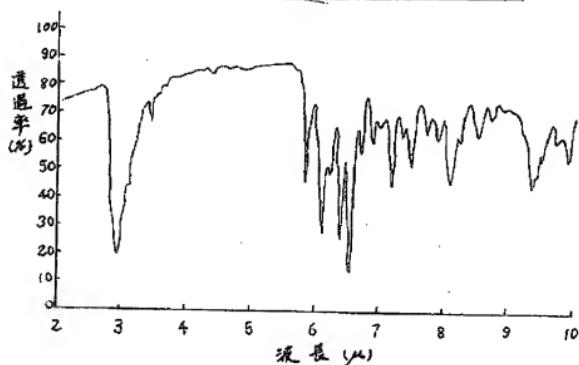
なお本品の赤外線吸収スペクトル(薄膜バラフ  
イン法)を示せば図2回の通りである。

特許請求の範囲

1 直鎖状または側鎖を有する炭素原子数3以上  
の脂肪酸のハロゲン化物を、リポフラビンとアル

カリ性水溶液で反応させ、リポフラビンのリピチ  
ル基をモノエスチル、ジエスチルまたはトリエス  
チル化することを特徴とするリポフラビン脂肪酸  
オリゴエスチルの製法。

図(4) リポフラビン

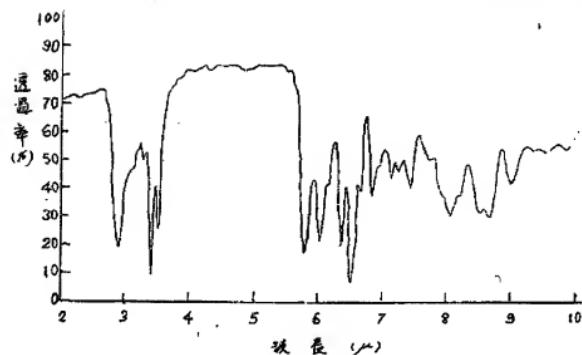


BEST AVAILABLE COPY

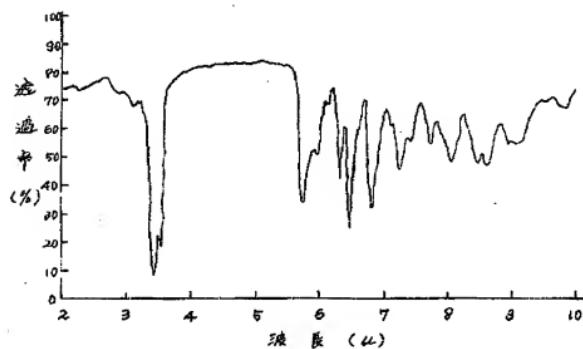
(4)

特公 昭 43-25506

第一圖 (b) リボフラビンラウリン酸トリエスカル



第二圖 リボフラビンイソ吉草酸トリエスカル



BEST AVAILABLE COPY

Page 422

was *prépd.* in 65% yield by reacting the Grignard reagent of tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl chloride with  $\text{MeSiCl}$ . Edwin L. DeYoung  
**58222K** Magnaycin.<sup>1</sup> Weiler, Lawrence S. (Harvard Univ., Cambridge, Mass.), 1968, 143 pp. (Eng.) Avail. Univ. Microfilms (Ann Arbor, Mich.), Order No. 68-15701. From *J. Am. Chem. Soc.* 1968, 90(5), 1616. SNDC

**S5223m Ristomycin A and B.** Structure of the carbonyl moiety of the molecules. Lomakina, N. N.; Tikhonova, I. I.; Pustovit, M. N.; Kostylev, V. V. *Izdatok*, No. 1, 1961; *Bioorg Khim*, No. 1, 1961; *J. Russ. Phys.-Chem. Soc.* 18, 103 (1886); *Antibiotik* 1968, 13(10), 867-71.

Ristomycin A (I) and B (II) were subjected to mild hydrolysis in dil. HCl at 100° and the carbohydrate was analyzed in the system 3:7:3:2:10:10:10:10:10:10:10:10 by paper chromatography. The 33% carbohydrates and the structure were determined as mannose-glycon glucose/(glucosamine)-mannose-arabinose. II contains 24% carbohydrates and the structure is mannose- $\alpha$ -glycon glucose- $\beta$ -arabinose. I and II have a mol. wt. 1000, identical uv spectra, the same elemental composition, b.p. activity, cannot be separated in 5 distillations by paper chromatography, and are apparently identical.

Ivo Hymel

**58224-Nepitin.** new flavone glucoside from *Nemoria* (*Neptunia*) *hindostana* and revision of the structure of pedatin. *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 1963, 6111-12; *Chem. & Ind. (London)*, 1963, 1111; *Indian J. Chem.*, 1968, 6, 1111. A new flavone glucoside, nepitin (I),  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_4$ , m.p. 234-5° (EtOH) was isolated from a 5% extract of air-dried whole plant of *N. hindostana*. It formed a heptacetate, m.p. 138-40°. Hydrolysis with 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in EtOH yielded 1 mole each of glucose and aglycone. The aglycone,  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$ , named nepitin (II), was found to be 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone. It formed a tetraacetate, m.p. 170°, and a tetramethyl ether, m. 175-7°. It did not give the glycosylation reaction (absence of 5-hydroxy- $\beta$ -D-glucopyranose). Demethylation of II with Na in liquid NH<sub>3</sub> yielded 3',4'-dihydroxy-7-methoxyflavone, identical with an authentic sample (Murti and Schindler, 1948). The tetramethyl ether of II was also identified with an authentic sample of 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone (Murti and Seetharam, 1951). These observations indicated that "I" is 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone. The structure, supported by its UV absorption spectrum, was confirmed by shifts with NaOAc and AlCl<sub>3</sub> was confirmed as follows: Complete ethylation of II gave the tetraethyl ether, m. 145-7°, which was identical with an authentic sample of 7-tetraethoxy-3,4,5,7-tetrahydroxy-2-hydroxy-3-methoxyacetophenone (Murti and Schindler, 1948). 3,4-dioxybenzaldehyde gave 2'-hydroxy-3,4,6,7-tetraethoxy-5'-methoxy-chalcone, m. 120-2°, which on SeO<sub>2</sub> dehydrogenation afforded III. The 7,6-difluoride of III, 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone, I, indicated by UV absorption spectrum, failed with shifts with NaOAc ( $\text{NaB}_3\text{O}_2$ ). This was also confirmed by the N.M.R. spectra of its heptaacetate (V). The structure of I and II had earlier been assigned as pentadentate acylglycones (Murti and Schindler, 1948). In view of the gross differences between IV and V and their corresponding acylglycones (I and II),<sup>13</sup> non-identity confirmed by direct comparison with authentic samples, the structure of IV was considered. With authentic samples, the structure of IV was reexamined, and has now been shown to be 5'-hydroxy-6,7-dihydroxy-6-oxohept-1-en-3-one (K. Achhavia and K. V. Akhavia, unpublished results). From the present observations on the structure, IV appeared that V could be 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone, which was indicated by the study of the UV spectral shifts of IV and V (alone) with shifts with various reagents and confirmed by shifts with the sugar group in IV was established as follows: The complete Me ether of IV was obtained by adding to a compd., m.p. 220-222°, with an ethylation yielded a product, m. 167-9°, identified with 6-Ethoxy-3',4',5,7-tetrahydroxyflavone, proving that glucose in IV must be attached to the 6-hydroxyl.

**58225p** Constituents of chrysopetalum plants in Japan. V.K. Nagaoka, S. Shibusawa, M. Morita, Naoko Matsui, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 16(11), 2310-11 (Eng.). The Chrysopetalum plant was extd. with MeOH to give a crystalline material which was identified as chrysopetalin (I) from its IR spectrum. Paper partition chromat. revealed the spectrum as a mixt. of 2 components, 1 of which was identified as the osenoside B, 5,4'-dihydroxy-6,6',7,8-tetrahydroxyavogenol monoglycoside; the other component gave a  $\beta$ -D-glucoside and aglycon on hydrolysis with  $H_2SO_4$ . The aglycon was identified as the 3',4'-dihydroxy-3,6,7,8-tetraethoxyflavon (II) and called chrysopetalin-D, and the 2nd component in the I mixt. was 3' or 4'- $\alpha$ -D-glucoside of II which was called chrysopetalin side-D. PS[N]

582209 Riboflavin esters. Yamabe, Shigeru; Terayama, Hiroshi (Sumitomo Chemical Co., Ltd.) Japan. 68 25 606 (CL 16 E 623), 04 Nov 1968; Appl. 16 Sep 1965; 4 pp. Lauric (C<sub>12</sub>-14, 21.9%) and 15 ml. acq. soln. contg. 7.3 g. KOH are

ing monosterols exhibit stronger therapeutic activity. Hiroshi Kataoka  
original spiramycin. Hiroshi Kataoka  
55297 D-Gluconic acids. Ide, Junji; Hoshi, Yoshiaki;  
Ando, Sochiki (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.) Japan, 65,  
08,990 (Cl. 16 B 66), 28 Mar 1968, Appl. 08 Apr 1965; 2 pp.  
Prepn. of the title compds., metabolic activators, from d-  
glucuno-1,4-lactone (I) or D-glucuno-1,5-lactone (II) and aliphatic  
aldehydes, carboxylic acids such as 8-aminoalanine,

phatic diaminoacarboxylic acids such as ornithine, Orn-Lys, or hydroxylysine are involved. Thus, 9.5 g. L-Ornithine (III) (freed from the HCl-salt on Amberlite IR-120) in 100 ml. MeOH were refluxed for 1 hr. and kept overnight at room temp., to give 12 g. D-gluco- $\alpha$ -L- $\alpha$ -ornithine (IV), m.p. 211–212°C. (decompn.). ( $H_2O$ —MeOH)

[ $\alpha$ ]D 30.5 ( $c$  0.69, H<sub>2</sub>O). Similarly, 12 g. was obtained from 10 g. I and 6.6 g. III in 300 ml. EtOH with 2 hr. refluxing. A solution of 10 g. II and 7.5 g. L-Lysine V in 310 ml. MeOH was refluxed for 1 hr., kept overnight in the cold, and the ppt. filtered off to give 13.1 g. D-gluconyl-L-Lysine (VI), m.p. 204° (decompn., H<sub>2</sub>O-MeOH), [ $\alpha$ ]D 23.6 ( $c$  0.80, H<sub>2</sub>O). Similarly, in 11.5 ml.

58230m Isolation of D-ribonuc acid. Shirokura, Fusae Kanzaki, Kenzo; Seko, Hiroyoshi; Yamashita, Tsutomu (Tanabe Seiyaku Co., Ltd.) Japan. 68 19,267 (Cl. 1B 661), 21 Aug. 1983. A new method for isolation of D-ribonuc acid is disclosed.

Seydel, C., U.S. Pat. No. 3,030,301, issued April 10, 1962; 2 pp. D-Ribulose acid(I) can be isolated from a soin, contg. I and p-arabonic acid(II) by forming a salt with addn. of  $Zn^{2+}$ . In an example, 800 g. Ca salt of I was isomerized as usual. The reaction mixt. was cooled, filtered to remove 472 g. unreacted Ca salt of II. To the filtrate was added 223 g.  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , and  $CaSO_4$  was removed by filtration with heating. The filtrate was cooled to 800 g. in vac.

58231 Adenosine and adenosines. Suzuki, Kataoka, Kuroda, mashiura, Izumi (Ajinomoto Co., Inc.) Brit. Pat. 1,133,974 (U.S. C. 07d), 27 Nov 1968, Japan; Appl. 18 Jun 1966 [Chem. Abstr. 66: 10000-10-0].

I ( $R = CN$ ) are treated with mixts. of amines and ortho ester compounds to give adenine; II; the III, where  $R$  is an alkyl group, are treated with mixts. of amines and  $H$  to give adenine; IV. Thus, a mixt. of  $R^1$  and  $R^2$  ( $R^1, R^2 = CN, [R^1R^2]^- = CM_2$ ,  $-H_2^+$  (V) and  $8.2 M$   $H_2OEt$ ) is treated with  $30 ml$   $MeOH$  at  $15^\circ C$  for 1 hr. Then the mixt. is heated in a sealed tube 6 hr at  $150^\circ C$  and worked up to give  $69\%$  2',3'-O-isopropylidenadenine (VI), m.p. 217-218°. Similarly prep'd. are the following: (I)  $R = H$  ( $R^1, R^2 = R^3$ , and m.p. given); (II),  $H_2R^1R^2$  ( $R^1, R^2 = H, R^3 = Me, [R^1R^2]^- = CM_2$ ); (III),  $R^1R^2R^3$  ( $R^1, R^2 = H, R^3 = Me, [R^1R^2R^3]^- = CM_2$ ); and the following compds.: adenine, IV ( $R = H, R^1 = Me, R^2 = H$ ); m.p. of V and  $HCONH_2$  is adenine, at  $161^\circ C$ ; m.p. of VI, 217-218°. Similarly prep'd. is adenine. A mixt. of III ( $R = Me, R^1 = R^2 = H$ ) (VII),  $8 M$   $NaOH$ , and  $MeOH$  is heated